BRAGANTIA

Boletim Técnico da Divisão de Experimentação e Pesquisas
INSTITUTO AGRONÔMICO

Vol. 10 Campinas, Fevereiro de 1950 N.º 2

SUMÁRIO

Pág.

OBSERVAÇÕES CITOLÓGICAS EM *ALOË* SP. 37
Cândida H. T. Mendes

INVESTIGAÇÕES SÔBRE A TRISTEZA DOS *CITRUS*
VI-Alguns estudos fisiológicos sôbre a moléstia 49
T. J. Grant, A. S. Costa, H. C. Mendes, J. E. de Paiva Neto e Renato A. Catani

OBSERVAÇÕES CITOLÓGICAS EM *COFFEA*. XIV-Microsporogênese em *Coffea arabica* L. var. *rugosa* K. M. C. 61
Dixier M. Medina

NOTA
Mancha anular do amendoim causada pelo vírus de viracabeça 67
A. S. Costa

20 OCT 1951

Secretaria da Agricultura do Estado de São Paulo
Departamento da Produção Vegetal
CAIXA POSTAL 28 — CAMPINAS
Estado de São Paulo — Brasil

DEPARTAMENTO DA PRODUÇÃO VEGETAL

DIRETOR GERAL: — Teodureto de Camargo

Divisão de Experimentação e Pesquisas

INSTITUTO AGRONÔMICO

DIRETOR: — C. A. Krug

SUBDIVISÕES

SUBDIVISÃO DE GENÉTICA : — A. Carvalho (substituto).

Secção de Genética : — A. Carvalho, A. S. Costa, C. S. Novais Antunes, H. Antunes Filho, M. J. Purchio, E. B. Germeck, M. P. Penteado, C. Marozzi.

Secção de Citologia : — A. J. T. Mendes, C. H. T. Mendes, Dixier M. Medina.

Secção de Introdução de Plantas Cultivadas : — L. A. Nucci (substituto).

SUBDIVISÃO DE HORTICULTURA : — S. Moreira.

Secção de Citricultura e Plantas Tropicais : — S. Moreira, J. Ferreira da Cunha, O. Galli, J. Soubihe Sobrinho.

Secção de Olericultura e Floricultura : — O. de Toledo Prado, L. de Sousa Camargo, S. Alves.

Secção de Viticultura e Frutas de Clima Temperado : —J. R. A. Santos Neto, O. Rigitano, O. Zardeto de Toledo, P. V. C. Bittencourt, J. B. Bernardi, E. P. Guião.

SUBDIVISÃO DE PLANTAS TÉXTEIS : — I. Ramos, O. S. Neves (substituto).

Secção de Algodão : — I. Ramos, O. S. Neves, (substituto), V. Schmidt, H. de Castro Aguiar, E. S. Martinelli, P. A. Cavaleri.

Secção de Plantas Fibrosas Diversas : — J. Vizioli, J. C. Medina, F. A. Correia, G. de Paiva Castro.

SUBDIVISÃO DE ESTAÇÕES EXPERIMENTAIS : — C. A. Krug, assistido por S. Moreira.

BRAGANTIA

Redação Técnica : A. Carvalho e A. Pais de Camargo.
Redação : B. Cavalcante Pinto e Ciro Alves Mourão.

Os manuscritos são apreciados por técnicos dêste Instituto, especializados no assunto. Os resumos em inglês foram revistos por gentileza do Dr. T. J. Grant.

Assinatura anual, Cr$ 50,00. — Para engenheiros agrônomos, 50% de abatimento.

Tôda correspondência deve ser dirigida à Redação de BRAGANTIA — Caixa postal 28 CAMPINAS — Est. de São Paulo — BRASIL.

BRAGANTIA

Boletim Técnico da Divisão de Experimentação e Pesquisas
INSTITUTO AGRONÔMICO

Vol. 10 Campinas, Fevereiro de 1950 N.º 2

OBSERVAÇÕES CITOLÓGICAS EM *ALOË* SP. (1)

CÂNDIDA H. T. MENDES
Engenheiro agrônomo, Secção de Citologia, Instituto Agronômico de Campinas

1-INTRODUÇÃO

As observações citológicas sôbre o gênero *Aloë* têm sido relacionadas com a morfologia dos cromossômios, a ocorrência e a localização dos satélites e a sua correspondência com os nucléolos presentes. Entre os autores que têm contribuído para o conhecimento dessas particularidades, podem ser citados Ferguson (2), Fernandes (3), Rezende (7), Satô (8) e Taylor (10), cujos trabalhos se referem a cêrca de 90 espécies.

Ao que parece, observações detalhadas sôbre a microsporogênese em espécies de *Aloë* ainda não foram realizadas.

Neste trabalho são apresentadas as observações feitas sôbre a microsporogênese e a gametogênese de uma planta do gênero *Aloë* existente no Instituto Agronômico de Campinas (est. 1), e sôbre a morfologia dos seus cromossômios em mitose e em meiose.

Tornou-se necessário um estudo botânico da planta em questão (2).

O número de espécies válidas é muito elevado. Assim é que o Índice Kewenses, até 1940, considera o gênero *Aloë* formado de 427 espécies, o que dá bem idéia da dificuldade dos estudos do gênero.

A única monografia do gênero é a de Berger (1), que descreve apenas 178 espécies. Com base nesta monografia, foi observado que alguns dos caraterísticos da planta em estudo são próprios de *Aloë macracantha* Baker e outros de *A. saponaria* Haw. Possìvelmente, trata-se de um híbrido entre essas duas espécies.

2-MICROSPOROGÊNESE E GAMETOGÊNESE

2.1-MATERIAL E MÉTODO

O estudo da microsporogênese foi feito em material colorido pelo processo comum do carmim acético. Dos botões colhidos foram retiradas as pétalas para uma melhor penetração do fixador nas anteras. O fixador usado foi o líquido de Carnoy (três partes de álcool absoluto e uma de ácido acético glacial).

Para o estudo da gametogênese foram feitas semeações de pólen em meio artificial—uma solução de ágar a 0,5% e 10% de sacarose.

(1) Trabalho apresentado na Primeira Reunião Anual da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência, realizada em Campinas, em outubro de 1949.

(2) O estudo botânico da planta foi feito pelo engenheiro agrônomo D. M. Dedeca, ao qual agradecemos a colaboração.

2.2-PROCESSO DA MICROSPOROGÊNESE

Os botões cujas anteras apresentam as células-mães de pólen em estado de divisão, variam entre 4,5 e 8,5 mm de comprimento. Dentro dos botões há anteras com filêtes de dois tamanhos — longos e curtos. Nota-se que tanto nas anteras de filête longo como nas de filête curto, o processo da microsporogênese se inicia ao mesmo tempo. Em ambas são encontradas células-mães de pólen no mesmo estado de enovelamento intenso, que carateriza o início da meiose. Entretanto, durante tôdas as demais fases da meiose, há uma pequena diferença entre elas, sendo que as anteras altas se adiantam com relação às baixas. As seguintes observações puderam ser realizadas:

FASES DA MEIOSE EM ANTERAS DE FILÊTE LONGO	FASES CORRESPONDENTES DA MEIOSE EM ANTERAS DE FILÊTE CURTO
zigotene	leptotene
diplotene	início de prófase
diplotene e anáfase I	início de prófase a diplotene
metáfase I a telófase II	plena prófase (diplotene)
telófase I a telófase II	anáfase I a anáfase II
tétrades de microsporos	tétrades de microsporos

Depois que as células-mães atingem o estado final de microsporos, as possíveis diferenças não foram analisadas.

Nas células-mães em que se vai iniciar o processo da meiose, o núcleo é situado excêntricamente e apresenta os cromossômios intensamente enovelados. Não foi possível observar membrana nuclear.

À medida que a prófase se desenvolve, os filamentos se vão separando uns dos outros, permitindo observar nìtidamente a sua duplicidade, desde o estado de leptotene (fig. 1-*A*). No estado de zigotene (fig. 1-*B*), o pareamento só pode ser observado em regiões onde as extremidades dos filamentos se destacam do enovelamento. O estado de paquitene parece ser muito rápido pois não foi possível encontrar células neste estado. No estado de diplotene (fig. 1-*C*), que se segue, os cromossômios são bastante espessos e curtos, podendo-se notar as regiões em que há quiasmas. Há células que, neste estado, já permitem a contagem de quatro cromossômios longos e três curtos. Em diaquinese (fig. 1-*D*) é acentuado o encurtamento dos pares de cromossômios, que se apresentam perfeitamente individualizados. Ao longo do corpo dos cromossômios, notam-se expansões que terminam por fios tênues, como se fôssem restos de anastomoses. Em metáfase I (fig. 1-*E*), os sete cromossômios atingem um máximo de encurtamento e se colorem muito intensamente. Apresentam-se êles como sete corpos espessos e compactos no centro da célula. Em vistas laterais de células neste estado (fig. 1-*F*), pode-se determinar o número e a posição dos quiasmas em cada cromossômio.

Conforme o número e a localização dos quiasmas, os cromossômios longos tomam formas caraterísticas, formas essas que permitem estudar o número de quiasmas de cada um dêles (fig. 1-*I*). Êsses pares de cromossômios, identificados por letras, apresentam os seguintes caraterísticos: a)

Exemplar de *Aloë* sp estudado no presente trabalho.

FIGURA 1.– Fases da microsporogênese em cédula-mãe de pólen, em Aloë sp. *A* — Leptotene (x800). *B* — Zigotene (x590). *C* — Diplotene (x590). *D* — Diaquinese *E* — Metáfase I, vista polar (x800). *F* — Metáfase I, vista lateral (x590). *G* — Anáfase I (x800). *H* — Metáfase II (x800). *I* — Quiasmas nos cromossômios em metáfase I; *a* — cromossômio com três quiasmas; *b* e *c* — cromossômios com dois quiasmas; *d* — cromossômio com um quiasma. *J* — Telófase II (x800).

um par de cromossômios — *a*, apresenta três quiasmas; b) um par de cromossômios — *b*, com dois quiasmas submedianos e que, pela posição dêstes, é frequentemente encontrado sob os aspectos b_1, b_2, b_3; c) um par de cromossômios — *c*, que também apresenta dois quiasmas, sendo um submediano e um subterminal; êste cromossômio se apresenta sob os dois aspectos c_1 e c_2; d) um par de cromossômios — *d*, com um quiasma subterminal e que, por essa razão, se apresenta sempre em estado de separação mais adiantado em relação aos pares *a*, *b* e *c*.

A separação anafásica é normal; mas, quando os cromossômios atingem os pólos (fig. 1-*G*), não é possível distinguir os cromossômios curtos, sendo visível apenas uma parte dos cromossômios longos.

A segunda divisão também é normal; os cromossômios passam ràpidamente pela metáfase II (fig. 1-*H*) e se separam em quatro grupos (fig. 1-*J*) com sete cromossômios cada um, que vão constituir os núcleos dos microsporos. Êstes se separam simultâneamente, constituindo os grãos de pólen, nos quais o núcleo, excêntrico, é relativamente grande e dotado de uma membrana bem visível.

2.3-PROCESSO DA GAMETOGÊNESE

O núcleo do grão de pólen sofre uma mitose somática, cuja prófase se carateriza por um enovelamento intenso dos cromossômios. Êstes apresentam uma diferenciação em regiões heterocromáticas e eucromáticas, e uma duplicidade bem visível (fig. 2-*A*). Notam-se, às vêzes, dois nucléolos e, outras vêzes, apenas um.

As placas metafásicas mostram, com muita nitidez, os sete cromossômios haplóides, sendo quatro longos e três curtos (fig. 2-*B*). Observa-se, neste estado, com relativa facilidade, um satélite distal num cromossômio longo e um satélite proximal num cromossômio curto. Quando ainda em metáfase, os cromossômios do grão de pólen se separam longitudinalmente nas suas metades, que se afastam numa anáfase e telófase normais (fig. 2-*C* e *D*), dando os núcleos reprodutivo e vegetativo.

Êstes dois núcleos se diferenciam logo em seguida; o núcleo reprodutivo é pequeno, colore-se intensamente, e tem, no início, a forma esférica (fig. 2-*E*); toma, a seguir, a forma lenticular, conservando a mesma intensa afinidade pelo corante. O núcleo vegetativo é bem maior do que o reprodutivo e se colore muito mal, sendo, porisso, mais difícil de ser visto através da exina dos grãos de pólen. Quando, entretanto, esta exina se rompe e liberta o citoplasma, é possível observar que o núcleo vegetativo apresenta um ou dois nucléolos, e que sua forma aos poucos se vai alterando, da forma circular para uma forma irregular (fig. 2-*E*).

Um fato interessante foi notado: logo depois que o núcleo reprodutivo toma a forma lenticular, os dois núcleos se apresentam sempre juntos. Em todos os grãos de pólen se observa esta associação, até o momento em que se inicia a germinação. Esta associação dos núcleos reprodutivo e vegetativo foi observada em três outras plantas do gênero *Aloë*, de espécies não determinadas, mas diferentes da planta em estudo.

FIGURA 2.-Mitose em grão de pólen de *Aloë* sp. A — Prófase (x1182). B — Metáfase (x1609), *a*, *b* e *c* — cromossômios longos sem satélites; *d* — cromossômio longo com satélite; *e*, *f* e *g* — cromossômios curtos. C — Anáfase (x1609). D — Telófase (x1609). *E* — Núcleos do grão de pólen, em diferentes fases de associação.

A divisão do núcleo reprodutivo se dá dentro do tubo polínico; nas condições em que foram feitas as atuais observações, ela começa a ser notada mais ou menos 10 horas após a semeação.

A germinação do pólen é normal e se inicia logo, tendo sido observada a formação de tubos polínicos 20 minutos após ter sido semeado. Os tubos polínicos são normais e longos, e para êles passam os dois núcleos. O núcleo vegetativo passa em primeiro lugar, ficando o reprodutivo no grão de pólen. Há casos em que passam os dois juntos. Durante o processo de crescimento do tubo polínico, os núcleos também caminham dentro dêle. Pode-se encontrar, em lâminas examinadas quatro e sete horas após terem sido semeadas, tubos polínicos onde o núcleo vegetativo está à frente do núcleo repro-

dutivo, tubos polínicos onde ocorre o caso inverso e, ainda, tubos onde os dois núcleos se encontram lado a lado. Cumpre notar, porém, que o primeiro caso foi mais frequente, como demonstram os números constantes do quadro 1.

QUADRO 1.—Número e percentagem de tubos polínicos em que se observou a posição relativa dos núcleos reprodutivo e vegetativo, quatro e sete horas após a semeação

Posição dos núcleos	Tubos polínicos observados			
	após quatro horas		após sete horas	
	número	%	*número*	%
Núcleos reprodutivos à frente	24	24,5	21	24,7
Núcleos vegetativos à frente	47	47,9	36	42,3
Os dois núcleos juntos.....	27	27,6	28	33,0
Total	98	100,0	85	100,0

2.4-OBSERVAÇÃO DOS NUCLÉOLOS EM MEIOSE

É de bastante interêsse o estudo referente ao número de nucléolos em meiose. Em células-mães de pólen, nos diferentes estados da prófase, os nucléolos se colorem muito mal. Apesar disso, podem êles ser vistos em certas células, conforme a intensidade de sua coloração, entre os filamentos cromossômicos.

No estado de diplotene, a sua observação é mais fácil e foram encontrados os seguintes casos: a) um nucléolo único ligado a um par de cromossômios longos; b) um nucléolo único ligado a um par de cromossômios curtos; c) um nucléolo único, ligado a um membro do par de cromossômios curtos; d) um nucléolo único ligado a um par de cromossômios longos e a um par de cromossômios curtos; e) dois nucléolos pequenos e iguais ligados a uma extremidade livre de cromossômio, do qual só essa parte era visível.

Esta variação, provàvelmente, deve ser devida à fusão dos nucléolos nas células em meiose, o que torna difícil a determinação do seu número.

3-OBSERVAÇÕES REALIZADAS EM TECIDO SOMÁTICO

3.1-MATERIAL E MÉTODO

A verificação do número somático de cromossômios foi feita em mitose de tecido de anteras e de raízes. A morfologia dos cromossômios foi melhor estudada nos grãos de pólen, que apresentam ótimas placas metafásicas.

O processo de coloração foi o do carmim acético comum, usando-se, para fixador, a mistura de álcool absoluto e ácido acético glacial, na pro-

porção de 3 : 1, ou conforme orientação de Whitaker (12), na proporção de 2 : 1. Outros processos, como o de Warmke (11), e o da hematoxilina para raízes, não deram bons resultados.

Para a verificação do número de nucléolos em células somáticas, as raízes foram colhidas e postas imediatamente em uma solução contendo:

Ácido acético	2,5 cm^3
CrO_3	2,5 cm^3
$Ni(OH)_2$	leve excesso
Água destilada	100 cm^3

Êste fixador, usado por Zirkle (13) para raízes de milho, é por êle aconselhado como um dos melhores fixadores para nucléolos em tecido somático.

Depois de fixadas durante 12 horas, pelo menos, as raízes foram submetidas à coloração com carmim acético, pelo processo de esmagamento, e com a hematoxilina, pelo processo de cortes em parafina. Em ambos os casos foram obtidas ótimas lâminas.

A figura 3, *A* e *B*, representa placas metafásicas em tecido somático de raízes, mostrando os satélites dos cromossômios longos. O complemento cromossômico não está completo em nenhuma delas. A figura 3, *C*, representa o complemento cromossômico em células somáticas de antera.

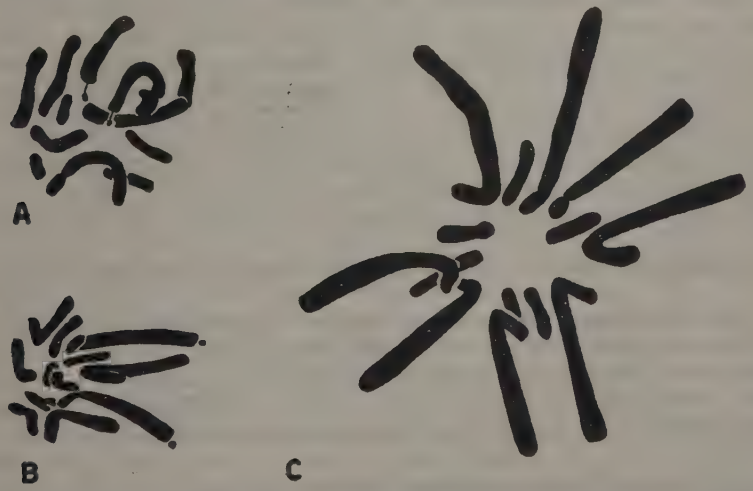

FIGURA 3.-Complemento diplóide de cromossômios em *Aloë* sp. *A* e *B* — Metáfase em ponta de raiz (x1609). *C* — Metáfase em célula somática de antera (x1609).

3.2-NÚMERO E MORFOLOGIA DOS CROMOSSÔMIOS. SATÉLITES

Foi observado o número de 14 cromossômios em células somáticas de raízes e de anteras (fig. 3-*A*, *B* e *C*). Em metáfase somática de grãos de pólen, observou-se, como ficou dito atrás, o número haplóide de 7 cromossômios.

Todos os cromossômios são do tipo assimétrico, isto é, têm os braços de comprimentos desiguais.

Os quatro cromossômios longos diferem pouco no comprimento total, mas se distinguem pela localização da constrição primária; dessas localizações diferentes resultam os seguintes tipos de cromossômios: a) um cromossômio com o braço curto mais ou menos igual a um têrço do comprimento do braço longo, cromossômio *a* (fig. 2-*B*); b) dois cromossômios em que o braço curto é menor do que no cromossômio anterior; são difíceis de distinguir um do outro, cromossômios *b* e *c* (fig. 2-*B*); c) um cromossômio cujo braço curto é muito pequeno, em consequência de ser a constrição quase terminal, cromossômio *d* (fig. 2-*B*); neste cromossômio foi verificada a existência de um pequeno satélite no braço longo.

Os cromossômios curtos têm também a constrição primária em posição subterminal. Não foi possível diferenciá-los, como no caso dos cromossômios longos. Um dêles traz um pequeno satélite no braço curto (fig. 2-*B*).

O estudo dos satélites foi feito tanto em células somáticas de raízes como em metáfases e anáfases de grãos de pólen.

Quanto aos cromossômios longos, foi possível observar, em metáfases de raízes, que dois dêles trazem satélites (fig. 3-*A* e *B*). Fazendo-se uma contagem em grãos de pólen, onde os cromossômios longos eram bem distintos, foi possível comprovar êste fato. De 140 grãos nestas condições, 124 permitiram ver o satélite; o número de grãos de pólen onde não foi possível ver o satélite do cromossômio longo é muito pequeno e pode mesmo ser desprezado, quando se levam em conta o pequeno tamanho do satélite e também certas posições do cromossômio, que não permitem a sua visibilidade. O satélite do cromossômio curto só foi visível em grãos de pólen, e uma contagem semelhante revelou que, em cêrca de 50% dos grãos de pólen, um cromossômio curto traz satélite e, noutros tantos, êste é ausente. De 99 grãos examinados, apenas 59 mostraram o cromossômio curto com satélite.

3.3-OBSERVAÇÃO DO NÚMERO DE NUCLÉOLOS EM TECIDO SOMÁTICO

Em células somáticas de raízes, tanto em lâminas coloridas pelo carmim acético, como em cortes coloridos pela hematoxilina, verificou-se que de 265 núcleos profásicos examinados, 55 (20,8%) apresentavam um só nucléolo, 130 (49,1%) apresentavam 2 nucléolos e 80 (30,2%) apresentavam três nucléolos. Não se encontrou nenhuma célula com quatro ou mais nucléolos.

Na verdade, foi examinado um número muito mais elevado de núcleos, e nenhum foi encontrado que apresentasse *mais de três* nucléolos.

3.4-RELAÇÃO ENTRE O NÚMERO DE SATÉLITES E O DE NUCLÉOLOS

Pelo que foi descrito em capítulos anteriores, sabe-se que a planta em estudo apresenta células somáticas com um, dois e três nucléolos. As células meióticas não permitiram conclusões, pelo fato de ser muito comum a fusão dos nucléolos.

Também em células somáticas foi observado que há três cromossômios com satélite.

A observação do número de satélites, mais fácil do que a do número de nucléolos, vem confirmar para esta os dados encontrados, pois se sabe que o número e a localização dos nucléolos num complemento cromossômico dependem do número e localização do satélite nos cromossômios (Sharp, **9**).

4-DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

As observações sôbre a planta do gênero *Aloë*, estudada neste trabalho, permitiram obter várias conclusões de interêsse.

O número haplóide de cromossômios é 7, sendo quatro cromossômios longos e três curtos.

A microsporogênese é perfeitamente normal, dando no fim quatro microsporos que se libertam da tétrade e se vão constituir em grãos de pólen. Os cromossômios meióticos apresentam, desde o início da prófase, uma duplicidade muito nítida; entretanto, o enovelamento é muito intenso e não permite que se observe o filamento ao longo de todo o seu comprimento. O estudo de quiasmas só pode ser feito para os cromossômios longos e em vistas laterais de metáfase I. Há um cromossômio com 3 quiasmas, dois com 2 quiasmas e um cromossômio com 1 quiasma.

A separação dos quatro microsporos formados é simultânea.

Os grãos de pólen são arredondados. O seu núcleo se divide, dando o núcleo vegetativo e o reprodutivo.

Conforme as observações feitas, os dois núcleos do grão de pólen se encontram num mesmo citoplasma. Entretanto, segundo Maheshwari (**5**), da divisão do núcleo do grão de pólen resultam sempre duas células, pois o núcleo reprodutivo possui um citoplasma à sua volta. O fato de não se observar êste citoplasma, no material em estudo, deve ser, segundo o que diz o mesmo autor, resultado de técnica imprópria. Também não foi possível observar, como êle afirma, que a célula reprodutiva (neste caso, o núcleo reprodutivo) se localiza no lado interno dos grãos de pólen (considerando o conjunto de microsporos recém-formados), pois, quando se dá a divisão, os microsporos já são grãos de pólen independentes, que se soltam durante o preparo das lâminas.

O fato mais importante a ser notado é a constante associação do núcleo reprodutivo e do vegetativo, que se inicia logo que o núcleo reprodutivo adquire a forma lenticular, e termina quando os grãos de pólen iniciam a germinação. Num trabalho sôbre os núcleos dos grãos de pólen de Angiospermas, cujo material utilizado foi o gênero *Haworthia*, Pinto-Lopes (**6**) apresenta uma figura que representa, aproximadamente, a situação encontrada em *Aloë;* tem-se a impressão, entretanto, de que um núcleo está sôbre o outro e não a êle associado. O autor não faz mesmo referência a qualquer tipo de associação.

Quando semeados em meio artificial, os grãos de pólen germinam rápida e perfeitamente.

No tubo polínico penetram os dois núcleos: — de preferência, primeiro o núcleo vegetativo, seguido pelo reprodutivo; há também a penetração dos dois ao mesmo tempo. Na maioria dos casos, o núcleo vegetativo se mantém à frente do reprodutivo no tubo polínico.

A formação dos gâmetas se dá dentro do tubo polínico, mais ou menos 10 horas após a semeação (nas condições da experiência). Os dois gâmetas são muito semelhantes entre si.

O número diplóide de cromossômios da planta em estudo é 14. Era esperado encontrar êsse número, pois se sabe que o gênero *Aloë* pertence ao primeiro grupo na classificação de Jorgensen, do qual fazem parte os gêneros em que tôdas as espécies possuem o mesmo número de cromossômios (3).

Estudando a morfologia dos cromossômios somáticos, pode-se dar ao complemento desta planta uma fórmula definida. Adotando-se a nomenclatura usada por Fernandes (3), a fórmula do complemento haplóide seria

$$3Lp + 1L + 3p$$

onde **L** significa *longus* e **p** significa *parvus*. Os cromossômios **Lp** são os que têm um braço longo e um curto bem distintos (os cromossômios *a*, *b* e *c*, fig. 2-*B*). O cromossômio designado por **L** tem o braço curto bastante reduzido, devido à localização quase terminal da constrição primária (cromossômio *d*, fig. 2-*B*), e os cromossômios designados por **p** são os curtos, com braços pouco perceptíveis.

Pode-se adotar, também, a nomenclatura de Satô (8) para os cromossômios de *Aloinæ*, que é mais simples e conveniente para mostrar quais os cromossômios que trazem satélites. Os cromossômios foram, por êsse autor, designados por L (long) e S (small), e descritos da seguinte maneira:

L_1 — dos quatro cromossômios longos, êste é o que tem o braço proximal maior; no braço distal há, geralmente, um satélite, exceto em algumas espécies de *Aloë*.

L_2 e L_3 — são cromossômios longos, com o braço proximal mais curto que o do L_1, porém, mais longo do que o do L_4; no gênero *Aloë* raramente apresentam satélites.

L_4 — dos cromossômios longos é o que possui o braço proximal mais curto.

S_1, S_2, e S_3 — cromossômios pequenos, com constrição subterminal. Em *Aloë*, o cromossômio S_3 raramente traz um satélite proximal.

A planta em estudo pode, então, ser representada pela seguinte fórmula:

$$2n = 14\ (8L + 6S),\ \text{sendo} \begin{cases} 8L = 2L_1 + 2L_2 + 2L_3 + 2L_4 \\ 6S = 2S_1 + 2S_2 + 2S_3 \end{cases}$$

O par de cromossômios L_4 possui um satélite distal; um par de cromossômios curtos, possìvelmente S_3, possui um satélite proximal, mas apenas em um dos seus elementos. Portanto, o cromossômio L_4 é homozigoto para o satélite, e o S_3 é heterozigoto.

A contagem de nucléolo em núcleos somáticos confirma a existência de 3 satélites.

Estas observações indicam que a planta é híbrida.

Recorreu-se, então, ao trabalho de Rezende (7), para ver quais das espécies examinadas por êle trazem um tal complemento cromossômico, isto é, homozigoto para o satélite do cromossômio longo e heterozigoto para o satélite do cromossômio curto. Encontra-se apenas "*Al.* x *Schimperi*" nesta classificação. Em Satô (8) também se encontram três espécies com êste complemento: *A. bortiana*(1), *A. latifolia* Haw. e *A. stricta*(2). Entretanto, o estudo botânico da planta revelou que ela apresenta uns tantos caraterísticos de *A. macracantha* e outros de *A. saponaria*. Pelos estudos de Rezende (7), sabe-se que *A. saponaria* tem um cromossômio longo e um curto, homozigotos para o satélite. Não foi possível, porém, conseguir uma descrição do complemento cromossômico de *A. macracantha*. Encontra-se em Johansen (4) apenas a informação de que os números encontrados foram n=7 e 2n=14.

Pode-se, então, deduzir, com relativa segurança, que *A. saponaria* é uma das espécies que entram na constituição dêsse híbrido. A outra espécie, muito provàvelmente, será *A. macracantha*.

5-RESUMO

No gênero *Aloë*, tôdas as espécies estudadas citològicamente até o presente (cêrca de 90) têm 2n=14 cromossômios.

Em uma forma não classificada, a microsporogênese e a gametogênese foram detalhadamente estudadas.

O fato mais interessante constatado é o de se associarem, nos grãos de pólen, os núcleos vegetativo e reprodutivo, sem, contudo, se fundirem. Nos tubos polínicos êles de novo se separam, e o reprodutivo dá formação a dois gâmetas.

O número e a morfologia dos cromossômios foram estudados em raízes e em grãos de pólen: o complemento cromossômico é constituído por quatro pares de cromossômios longos, bem identificados, e três pares de cromossômios curtos. Um dos cromossômios longos possui um satélite distal; um dos cromossômios curtos possui um satélite proximal, porém apenas em um dos elementos.

Um máximo de três nucléolos nos núcleos somáticos de raízes foi constatado, concordando com a existência de três cromossômios com satélites.

O fato de ser esta forma heterozigota, para um dos pares de cromossômios curtos, indica que se deve tratar de um híbrido.

O estudo botânico revelou que ela apresenta alguns caraterísticos de *A. macracantha* e outros de *A. saponaria*. Da espécie *A. macracantha*, sabe-se apenas que tem sete pares de cromossômios. *A. saponaria*, com igual número de cromossômios, é uma das três únicas espécies estudadas que possuem satélites no par de cromossômios curtos.

Pode-se, então, deduzir, com relativa segurança, que *A. saponaria* é uma das espécies que entram na constituição dêsse híbrido. A outra espécie, muito provàvelmente, será *A. macracantha*.

(1) Esta espécie deve ser a espécie *A. borziana* Terr., citada em Index Kewensis, suplemento 1, 1896-1910.

(2) Esta espécie não consta das espécies válidas citadas no Index Kewensis.

SUMMARY

In this paper the results are presented of a study of microsporogenesis and gamete formation in an unclassified form of *Aloë*. This form of *Aloë* was found to have 2n = 14 chromosomes, a condition which is characterestic of all of the species of this genus that have been examined cytologically.

The most interesting observation made in the present study was the constant association, but no fusion, of the vegetative and reprodutive nuclei inside the pollen grain. It was also noted that this association disappears when the nuclei enter the pollen tube. The reproductive nucleus in the pollen tube gives rise to two small male gametes.

This paper also includes a description of the morphology of the chromosomes as studied in the root tip cells and in pollen grains. In the form of *Aloë* studied there are 4 pairs of long chromosomes and 3 pairs of short ones. One pair of the long chromosomes was found to be homozygous for a satellite at the distal arm and one pair of short chromosomes was determined to be heterozygous for a satellite at the proximal arm. It was also observed that there was a maximum of three nucleoli in each somatic cell nucleus which agrees with the existence of three satelites.

The cytological observations made indicate that the *Aloë* plant studied is a hybrid. Also a botanical analysis revealed that this form of *Aloë* has some characters of *A. saponaria* (one of the few species with satellites in short chromosomes) and some characters similar to those of *A. macracantha*. On the basis of the present investigations then, it seem highly probable that the form of *Aloë* studied is a hybrid between the two above mentioned species.

LITERATURA CITADA

1. **Berger, A.** Gênero *Aloë*. *Em* A. Engler. Das Pflanzenreich, pág. 159-325. Wilhelm Engelmann, Leipzig, 1908.
2. **Ferguson, N.** The *Aloinae:* a cytological study with special reference to the form and size of chromosomes. Phil. Trans. Roy. Soc. London **215**: 225-253. 1926.
3. **Fernandes, A.** Estudos nos cromosomas das *Liliaceas* e *Amarilidaceas*. Bol. Soc. Brot. Coimbra **7** (II série): 3-110. 1931.
4. **Johansen, N. A.** The chromosomes of *Aloë macracantha*. Journ. Cactus & Suc. Soc. Amer. **1**: 8-9, 1929.
5. **Maheshwari, P.** The male gametophyte of Angiosperm. Bot. Rev. **15**: 1-75. 1949.
6. **Pinto-Lopes, J.** On the differentiation of the nuclei in pollen-grains of Angiosperms. Portugaliae Acta Biológica **2** (série A): 237-247. 1948.
7. **Rezende, F.** Über die Ubiquität der Sat-chromosomen bei den Blütenpflanzen. Planta **26**: 757-807. 1937.
8. **Satô, D.** Karyotype alteration and phylogeny. I-Analyses of karyotypes in *Aloinae* with special reference to the Sat-chromosome. Cytologia F. J.: 80-95. 1937.
9. **Sharp, L. W.** *Em* Fundamentals of Cytology, pg. 86. McGraw-Hill Book Co., New York and London, 1943.
10. **Taylor, W. R.** Cytological studies on *Gasteria*. II-A comparison of the chromosomes of *Gasteria*, *Aloë* and *Haworthia*. Am. Jour. Bot. **12**: 219-223. 1925.
11. **Warmke, H. R.** A permanent root-tip smear method. St. Tec. **10**: 101-104. 1935.
12. **Whitaker, T. W.** An improved technic for the examination of chromosomes in root tip smears. St. Tec. **9**: 107-108. 1934.
13. **Zirkle, C.** Nucleolus in root tip mitosis in *Zea Mays*. Bot. Gaz. **86**: 402-418. 1928.

INVESTIGAÇÕES SÔBRE A TRISTEZA DOS *CITRUS*

VI - ALGUNS ESTUDOS FISIOLÓGICOS SÔBRE A MOLÉSTIA

T. J. Grant, *patologista, Departamento da Agricultura dos Estados Unidos;* A. S. Costa, *engenheiro agrônomo, Secção de Genética;* H. C. Mendes, *engenheiro agrônomo, Secção de Fisiologia;* J. E. de Paiva Neto e Renato A. Catani, *engenheiros agrônomos, Secção de Agrogeologia, Instituto Agronômico de Campinas*

1 - INTRODUÇÃO

O principal objetivo dos estudos feitos em cooperação entre o Instituto Agronômico de Campinas e o Departamento Federal de Agricultura dos Estados Unidos, é a determinação da reação de uma grande coleção de *Citrus* à tristeza. Esta coleção se compõe de mais de quinhentas variedades ou espécies da família *Rutaceæ*, das quais cêrca de trezentas foram introduzidas dos Estados Unidos. Cada um dos tipos está sendo estudado em sua reação como cavalo para os vários tipos comerciais de *Citrus*, como cavaleiro sôbre laranja azêda (*Citrus aurantium* L.) e também em sua reação de pé franco.

Em aditamento aos estudos acima mencionados, foram efetuadas experiências visando determinar a influência de certos fatôres do ambiente sôbre a manifestação da moléstia e, também, sôbre a influência exercida pela moléstia na transpiração da planta e na sua composição química. Alguns dêstes estudos foram feitos nas secções especializadas do Instituto Agronômico, sendo responsáveis pelas partes componentes desta publicação os técnicos cujos nomes são dados no início de cada uma delas.

Os estudos sôbre a tristeza, no Brasil, foram grandemente facilitados pela descoberta do vetor da moléstia (**1**) e pela possibilidade de reproduzi-la ràpidamente por meio de inoculações artificiais. Plantas novas e vigorosas de laranja doce (*Citrus sinensis* Osb.), enxertadas sôbre cavalo de laranja azêda, mostram os sintomas iniciais de tristeza em cêrca de quatro a dez semanas após a inoculação. Tem sido também observado que os sintomas se manifestam mais cedo nas plantas inoculadas durante os meses mais quentes do ano, quando o crescimento das plantas é mais rápido, do que nos meses mais frios, quando o crescimento é mais lento.

Em geral, o primeiro sintoma de tristeza nas plantas de laranja doce enxertadas sôbre laranja azêda, é um amarelecimento dos brotos novos que, em muitos casos, é mais intenso ao longo da nervura principal e das nervuras secundárias das fôlhas. Em outros casos, a clorose se manifesta entre as nervuras e se assemelha aos sintomas considerados como devidos à deficiência de zinco. Os sintomas iniciais são seguidos por um declínio geral da planta, que pode manifestar-se como amarelecimento das fôlhas

velhas, queda das fôlhas e morte dos ponteiros. Algumas variações foram notadas na ocorrência e severidade dos sintomas em associações com condições do ambiente, e êstes fatos levaram os autores à execução das experiências adiante relatadas.

2-INFLUÊNCIA DA UMIDADE DO SOLO

T. J. GRANT e A. S. COSTA

A finalidade dêste ensaio foi determinar a influência da umidade do solo sôbre a manifestação dos sintomas de tristeza. Usaram-se, para êsse fim, plantas-teste crescidas em vaso, compostas de copa da variedade Barão e cavalo de laranja azêda. Quarenta plantas bastante uniformes foram escolhidas e separadas em dois grupos de vinte plantas. Um dos grupos foi inoculado com afídeos virulíferos criados em plantas afetadas, sendo os insetos mortos depois de 48 horas. Uma camada delgada de areia foi espalhada em cada um dos vasos e todos êles foram imersos em uma vasilha com água até que não mais se formassem bôlhas de ar, para saturar o solo de maneira uniforme em todos os vasos. Após remoção da água, os vasos foram separados em quatro grupos de dez plantas, sendo cinco inoculadas e cinco não inoculadas e então foram colocados em uma estufa, sôbre bancos de madeira.

Às plantas do primeiro grupo adicionaram-se, diàriamente, 50 cm^3 de água por vaso; ao segundo grupo, adicionaram-se 100 cm^3; ao terceiro, 200 cm^3; os vasos do quarto grupo foram colocados em latas com água, ficando imersos mais ou menos até metade de sua altura.

Sob as condições do presente ensaio, os sintomas de tristeza foram observados em cêrca de oito a dez semanas, primeiramente nas plantas que cresciam em vasos mergulhados na água e naquelas que recebiam diàriamente 200 cm^3 de água. Em contraste com a manifestação rápida dos sintomas nas plantas inoculadas e submetidas a êstes tratamentos, as plantas que receberam apenas 50 cm^3 de água por dia levaram 28 semanas para mostrar sintomas definidos da moléstia. Houve, portanto, uma diferença de cinco meses na manifestação dos sintomas entre plantas que cresciam em vasos com terra relativamente saturada de água e em vasos com pequeno teor em água. Esta experiência confirma observações feitas por Moreira(1) de que a manifestação dos sintomas de tristeza em pomares naturalmente infetados é mais rápida nas plantas que crescem nas áreas mais baixas do terreno, onde é de se esperar que haja maior umidade no solo.

Os resultados do presente ensaio indicam também que, quando a umidade do solo é suficiente para permitir o crescimento rápido das plantas, como no caso do grupo que recebeu 200 cm^3 de água por dia, os sintomas da moléstia se desenvolvem ràpidamente.

Embora não se manifestassem sintomas positivos de tristeza nas plantas inoculadas do grupo que recebeu 50 cm^3 de água por dia, senão depois de

(1) Comunicação pessoal feita aos autores pelo Eng.º Agr.º Sílvio Moreira, Chefe da Secção de Citricultura, Instituto Agronômico de Campinas.

28 semanas, pôde-se observar antes disso que havia uma diferença entre as plantas inoculadas e os contrôles do mesmo grupo. Cêrca de doze semanas após o início da experiência podia-se notar que, devido à falta de umidade no solo, as plantas sadias murchavam bastante, principalmente durante a parte mais quente do dia. Em contraste, as plantas inoculadas possuíam fôlhas mais coriáceas e rijas, em posição mais vertical, e não apresentavam aspecto murcho. Nenhuma das plantas dêste grupo mostrou crescimento satisfatório, mas as plantas inoculadas pareciam resistir melhor à falta de água que as sadias. Êste fato era sugestivo de que, como um resultado da infecção, as atividades fisiológicas da planta afetada eram alteradas e que, como resultado dessa alteração, esta provàvelmente perdia menos água do que as plantas sadias. A fim de verificar êste ponto, foi solicitado à Secção de Fisiologia do Instituto Agronômico que fizesse a determinação da transpiração de plantas infetadas pela tristeza e de plantas sadias comparáveis.

3-INFLUÊNCIA DA TRISTEZA SÔBRE A TRANSPIRAÇÃO

H. C. Mendes

A finalidade dêste ensaio foi determinar se havia diferença na razão de transpiração entre plantas infetadas pela tristeza e plantas sadias. Usaram-se, para êsse fim, cinco plantas-teste compostas de copa de laranja Barão e cavalo de laranja azêda, infetadas pela moléstia, e cinco plantas comparáveis, sadias, que serviram como testemunhas.

A determinação da transpiração foi feita pelo método direto, colocando-se cada vaso, dentro do qual a planta crescia, no interior de um recipiente metálico, e selando-se êste cuidadosamente, de tal sorte que apenas a parte aérea da planta ficasse exposta. A determinação da perda de umidade por transpiração foi feita por pesagem em balança de torção. Durante quatro dias consecutivos pesaram-se os dez recipientes, de hora em hora, desde as 10 até às 16 horas. Tôdas as plantas foram mantidas sob as mesmas condições de luz, temperatura e umidade.

A determinação da transpiração relativa foi feita determinando-se a área foliar de cada planta. Para êsse fim, após o término da experiência, desenharam-se os contornos de tôdas as fôlhas de cada planta, determinando-se depois a área das figuras delineadas por meio de planímetro. Conhecendo-se a área foliar da planta e a sua transpiração em miligramas, foi calculada a razão de transpiração de cada uma das dez plantas. Os resultados obtidos estão reproduzidos no quadro 1. Êles mostram que, nas condições da presente experiência, as plantas sadias perderam, pela transpiração, cêrca de 2,5 vêzes mais água que as plantas afetadas pela tristeza.

QUADRO 1.-Transpiração relativa, por minuto e por decímetro quadrado, de 10 plantas de laranja doce enxertada sôbre azêda, sendo 5 afetadas e 5 não afetadas pela tristeza

Plantas sadias		Plantas afetadas	
N.º da planta	Transpiração	N.º da planta	Transpiração
	mg		*mg*
1	2,59	6	0,66
2	1,60	7	0,85
3	3,95	8	0,82
4	2,78	9	1,18
5	2,68	10	1,80
Média.....	2,72	Média	1,06

4-INFLUÊNCIA DA LUZ SÔBRE A MANIFESTAÇÃO DOS SINTOMAS

T. J. GRANT e A. S. COSTA

Embora não se dispusesse de compartimentos com luz controlada, procurou-se estudar a influência da luz sôbre a manifestação da tristeza, reduzindo-se as horas de exposição à luz natural de grupos de plantas, por meio de cobertura com caixa revestida de pano prêto bem fechado.

Cada grupo era composto de dez plantas inoculadas e quatro plantas comparáveis, sadias. Efetuaram-se os seguintes tratamentos:

Grupo 1 — Plantas expostas sob as condições normais de luz em estufa, isto é, durante cêrca de 14 horas diárias.

Grupo 2 — Plantas expostas sob as condições normais de luz em estufa sòmente durante 10 horas (das 7 às 17 horas).

Grupo 3 — Idem, com período de exposição de 6 horas (das 7 às 13 horas).

Grupo 4 — Plantas colocadas em um alpendre, sob condições de meia luz.

Tôdas as plantas da experiência, afetadas e sadias, foram medidas em diferentes ocasiões, classificando-se também os sintomas de tristeza em graus de 1 a 5. O grau 1 corresponde aos sintomas iniciais de amarelecimento do brôto novo e o grau 5 aos sintomas avançados da moléstia, isto é, amarelecimento intenso das fôlhas acompanhado de queda destas.

A influência da luz sôbre o crescimento das plantas inoculadas e sadias é dada no quadro 2, onde são reproduzidas as médias da altura das plantas de cada um dos grupos durante três meses.

QUADRO 2.- Crescimento (1), após a inoculação, de plantas de laranja doce enxertadas sôbre azêda, infetadas ou não pela tristeza, sob várias condições de exposição à luz

Exposição à luz	Primeiro mês		Segundo mês		Terceiro mês		Total	
	Sadia	Infetada	Sadia	Infetada	Sadia	Infetada	Sadia	Infetada
	cm	*cm*	*cm*	*cm*	*cm*	*cm*	*cm*	*cm*
Dia completo (cêrca de 14 horas)	5	10	12	2	16	1	33	13
10 horas	5	6	9	0	8	1	22	7
6 horas	4	5	5	2	7	2	16	9
Meia sombra	1	1	0	0	1	1	2	2

(1) Média baseada nas mensurações feitas em quatro plantas sadias e dez plantas infetadas, em cada tratamento.

No fim de três meses, as plantas sadias cresceram 33 cm sob condições normais de exposição à luz, 22 cm quando expostas por 10 horas, 16 cm quando expostas por 6 horas e apenas 2 cm sob condições de meia luz. As plantas inoculadas cresceram, respectivamente, 13, 7, 9 e 2 cm sob essas mesmas condições.

É evidente que em todos os casos, exceto sob condições de meia luz, as plantas inoculadas cresceram menos que as sadias. As determinações mensais feitas mostram que, no primeiro mês após a inoculação, as plantas expostas às condições usuais de luz cresceram 10 cm, em média, ao passo que as plantas não inoculadas cresceram apenas 5 cm, em média. Ligeira vantagem, no crescimento das plantas inoculadas no primeiro mês, também foi verificada no caso das plantas expostas à luz por 10 e 6 horas. Os dados sôbre o crescimento das plantas inoculadas no fim do segundo e do terceiro mês, após inoculação, mostram que o crescimento tinha quase que cessado ou era apenas de um a dois centímetros por mês. Isto estava em distinto contraste com o crescimento das plantas sadias expostas à luz pelos mesmos períodos. Sob condições de meia luz, o crescimento, tanto das plantas sadias como infetadas, foi muito pequeno, não ultrapassando dois centímetros, durante o período de duração da experiência.

Além rodas difeenças n crescimento das plantas sadias e infetadas, quando expostas à luz por diferentes períodos diários, notou-se, também, que a luz influenciava a severidade dos sintomas da moléstia. No fim de três meses, o grau médio de tristeza das plantas inoculadas, submetidas às várias exposições de luz, foi de : exposição normal — 3,6; 10 horas de exposição — 2,1; 6 horas de exposição — 0,5. Sob condições de meia luz não se notou nenhum sintoma de tristeza, embora as plantas não se tivessem desenvolvido.

Em resumo, pode-se dizer que, sob condições de meia luz, as plantas-teste sadias e inoculadas pràticamente não cresceram e estas não mostraram sintomas da moléstia. O crescimento das plantas sadias aumentou com a maior exposição à luz, enquanto que as plantas infetadas cresceram bem apenas durante o primeiro mês, tendo posteriormente cesssado o desenvolvimento. A severidade dos sintomas de tristeza apresentada pelas plantas infetadas cresceu com o aumento no período de exposição à luz.

O resultado dêste ensaio, assim como aquêles relativos à influência da umidade do solo, mostram que os sintomas de tristeza estão relacionados com a razão de crescimento das plantas infetadas, e que a paralisação do crescimento das plantas é um dos principais sintomas da moléstia. Êstes resultados sugerem que, suplementando-se a exposição à luz das plantas inoculadas por meio de iluminação artificial, se poderá diminuir o período necessário para obtenção de sintomas de tristeza.

5-TENTATIVAS PARA INATIVAR O VÍRUS DA TRISTEZA "IN VIVO"

A. S. COSTA e T. J. GRANT

Nos testes efetuados até o presente, ainda não foi conseguida a transmissão do vírus da tristeza por métodos mecânicos. Êste fato e o insucesso obtido nas tentativas feitas para alimentar o afídeo vetor da tristeza por meios artificiais, têm impossibilitado a determinação das propriedades do vírus da tristeza *in vitro*.

Diante da impossibilidade acima apontada, tentou-se determinar a temperatura de inativação do vírus da tristeza e a sua resistência a substâncias químicas *in vivo*, aproveitando-se para isso o vírus presente nas estacas das quais se tiram as borbulhas para enxertia.

Um método que permitisse a inativação do vírus da tristeza em estacas sem injuriar os tecidos das borbulhas seria de grande vantagem. Do ponto de vista prático, permitiria a obtenção de borbulhas isentas de vírus para uso em regiões não invadidas pela tristeza. Também iria auxiliar na investigação comparativa de clones sadios e infetados sôbre os diferentes cavalos, visto que se torna impossível obter material sadio de certas variedades em áreas completamente invadidas pela moléstia. Embora se possam obter clones isentos de tristeza a partir de embriões nucelares das variedades que se desejam, a determinação das mudas provenientes de embriões nucelares é muitas vêzes difícil e, além disso, mesmo quando provenientes de embriões nucelares, as mudinhas podem diferir da planta-mãe em certos aspectos.

5.1-INATIVAÇÃO PELO CALOR

Estacas uniformes de plantas de laranjeira Barão, portadoras do vírus da tristeza, foram tratadas a várias temperaturas e por diferentes períodos de imersão em banho-maria de temperatura constante. Depois do tratamento, as estacas foram mergulhadas em água fria e em seguida as borbulhas destas foram enxertadas em cavalos de laranja azêda. Pela obser-

vação do crescimento feito pela borbulha, sôbre o cavalo não tolerante, foi possível determinar se tinha havido inativação do vírus ou se êste tinha sido modificado. Os resultados obtidos nestes ensaios estão reproduzidos no quadro 3.

QUADRO 3.-Resultados do ensaio para determinação da temperatura de inativação do vírus da tristeza em estacas de enxertia

Temperatura em graus centígrados	Duração do tratamento	Borbulhas ensaiadas	Borbulhas pegadas	Borbulhas que deram brotos com sintomas de tristeza
	Minutos	*Número*	*Número*	*Número*
40	30	15	13	13
	120	15	11	11
	270	15	9	9
45	30	15	13	13
	120	15	10	10
	270	15	0	....
50	2	5	5	5
	5	5	5	5
	10	5	4	4
	15	5	3	3
	30	15	0	....
55	2	5	3	3
	5	5	0	....
	10	5	0	....
Testemunhas não tratadas	....	30	30	30

Vê-se, pelos dados do quadro 3, que o vírus da tristeza não foi inativado em nenhuma das temperaturas e períodos de tratamento ensaiados que permitiram a sobrevivência da borbulha. Também nenhuma diferença foi observada nos sintomas mostrados pelas borbulhas tratadas e pelas testemunhas. Êstes fatos sugerem que a temperatura de inativação do vírus da tristeza é, provàvelmente, mais elevada que a das células vivas da borbulha e que, portanto, a inativação do vírus pelo calor em tecidos vivos da laranjeira não parece ser método viável.

5.2-INATIVAÇÃO POR SUBSTÂNCIAS QUÍMICAS

Os ensaios de inativação química do vírus da tristeza em estacas para enxertia foram feitos com galhos de ano, de plantas da variedade Barão, portadoras do vírus da tristeza. Dos galhos escolhidos, cortaram-se as fôlhas basais, deixando-se apenas cinco ou seis na parte superior. A extre-

midade inferior de cada galho foi, então, imersa na solução a ser ensaiada, dentro de um tubo de ensaio, tendo-se o cuidado de manter o nível da solução durante o período de três dias que durou o tratamento. Depois disso, as borbulhas das estacas tratadas foram usadas para enxertia sôbre cavalos de laranja azêda.

Ensaiaram-se quatro diluições, 1 :100, 1 :1.000, 1 :10.000 e 1 :100.000, de cada uma das seguintes substâncias: sulfanilamida, sulfapiridina, sulfadiazina, sulfatiazol, sulfaguanidina, sulfamerizina, difeniltiocarbazone, dietil ditiocarbamato de sódio e hiperclorato de sódio. As testemunhas foram tratadas com água.

Entre as substâncias ensaiadas, dietil ditiocarbamato de sódio foi a única que se mostrou tóxica às borbulhas, reduzindo consideràvelmente o pegamento em tôdas as diluições, exceto a 1 :100.000. No caso dos outros tratamentos, o pegamento das borbulhas foi muito bom.

A observação do crescimento feito pelas borbulhas tratadas e pelas testemunhas mostrou que nenhum dos tratamentos químicos empregados teve ação inibidora sôbre o vírus da tristeza presente nas borbulhas, não tendo havido também variação nos sintomas presentes nos galhos resultantes das borbulhas tratadas em comparação com as não tratadas.

6-SINTOMAS DE DEFICIÊNCIA

T. J. GRANT e A. S. COSTA

Tem sido notado que plantas cítricas, em viveiros de enxertia na Estação Experimental Central em Campinas, mostram, frequentemente, sintomas de deficiência. Êstes são mais visíveis nas épocas sêcas do ano. Como os sintomas iniciais de tristeza, em muitos casos, se assemelham àqueles causados por deficiência de certos elementos, procurou-se verificar qual a influência da moléstia na manifestação dos sintomas de deficiência, e a possibilidade de reduzir a severidade dêstes sintomas nas plantas infetadas, pela aplicação de certos elementos.

Em ensaios preliminares efetuados com plantas do campo, aplicaram-se várias soluções sôbre as fôlhas com sintomas de deficiência, para determinar, pela reação das plantas ao tratamento, qual o elemento cuja falta estava induzindo os sintomas da deficiência. Utilizaram-se soluções a 1% dos seguintes sais: fosfato de ferro, sulfato de manganês, ácido bórico, sulfato de zinco, sulfato de magnésio e nitrato de cálcio. Os resultados dêstes ensaios preliminares mostraram que as plantas com sintomas de deficiência reagiam principalmente às aplicações de sulfato de zinco.

Sintomas semelhantes aos de deficiência de zinco têm sido observados tanto em plantas de pé franco como em plantas enxertadas nas épocas sêcas do ano e, no caso de plantas afetadas pela tristeza, julgou-se que isso poderia resultar da destruição das raízes induzida pela moléstia. Parecia também desejável experimentar se as aplicações de zinco em plantas inoculadas com tristeza iriam retardar ou reduzir a severidade dos sintomas da moléstia. Em vista destas possibilidades e de que as aplicações de zinco

poderiam ter efeito sôbre as atividades enzimáticas da planta, efetuou-se o seguinte ensaio:

Usaram-se quarenta plantas de laranja doce da Flórida, enxertadas em cavalo de laranja azêda. Trinta destas plantas foram inoculadas com tristeza por meio de afídeos virulíferos, que foram mortos após se alimentarem sôbre estas por 48 horas. Dez das plantas inoculadas foram então pulverizadas com uma solução de sulfato de zinco a 1% cada quinze dias; dez outras plantas inoculadas receberam o mesmo tratamento com intervalo de um mês, e as outras dez plantas inoculadas não receberam nenhuma aplicação de sulfato de zinco. As dez plantas não inoculadas receberam o tratamento aplicado às plantas inoculadas do primeiro grupo, isto é, aplicações de sulfato de zinco a 1% cada quinze dias.

Mensurações do crescimento e observações dos sintomas mostrados pelas plantas da experiência foram feitas em intervalos mensais. No terceiro mês após a inoculação, 29 das 30 plantas inoculadas mostravam sintomas severos de tristeza, ao passo que as dez plantas não inoculadas e uma das inoculadas, que tinha aparentemente escapado à infecção, mostravam crescimento vigoroso. Nenhuma das plantas inoculadas ou testemunhas mostrou efeito benéfico do tratamento com zinco, parecendo que êste elemento não exerceu nenhum papel em retardar a manifestação dos sintomas de tristeza. Na verdade, as plantas infetadas que receberam aplicações de sulfato de zinco, cada 15 dias, mostravam sintomas ligeiramente mais severos (grau médio 4,7) do que as plantas infetadas não tratadas (grau médio 4,2).

Os resultados dêste ensaio e aquêles obtidos em ensaios de anelagem, no qual plantas sadias aneladas mostravam sintomas de deficiência na copa, sugerem que os sintomas de deficiência não são efeitos primários, mas estão associados com efeitos secundários da tristeza. Como o vírus da tristeza afeta os tecidos do floema e induz distúrbios na translocação dos alimentos na planta, parece lógico imaginar que a sua ação poderia também induzir a manifestação precoce dos sintomas de deficiência. Nas áreas recentemente invadidas pela tristeza, a ocorrência anormal de sintomas de deficiência ou a severidade dêstes poderiam ser consideradas como provável indicação da presença e distribuição do vírus. Êstes sintomas poderiam servir, pelo menos, para indicar quais as plantas que deveriam ser posteriormente ensaiadas para verificação da presença da moléstia.

7 - COMPOSIÇÃO QUÍMICA MINERAL DE PLANTAS SADIAS E AFETADAS PELA TRISTEZA

J. E. de Paiva Neto e Renato A. Catani

Na suposição de que plantas afetadas pela tristeza pudessem sofrer modificações importantes na sua composição química mineral, efetuou-se a análise de cinco plantas afetadas e de cinco plantas sadias comparáveis, com cêrca de doze meses de idade. As plantas usadas eram compostas de copa de laranja doce enxertada sôbre cavalo de laranja azêda e tinham sido inoculadas quatro meses antes de serem analisadas. Na ocasião em

que se colheu o material para análise, as plantas inoculadas mostravam sintomas severos da moléstia.

Na execução das análises do material para determinações do teor em K_2O, CaO, MgO, P_2O_5, Na_2O, MnO e SiO_2, usaram-se os seguintes métodos: para o potássio, o método do cobaltinitrito; cálcio, pelo método permanganimétrico; magnésio, pelo método da 8-hidroxiquinolina; fósforo, pelo método colorimétrico; sódio, pelo método fotométrico de chama; silício, pelo método gravimétrico, e manganês, pelo método colorimétrico.

Os teores médios dos elementos encontrados nas fôlhas, na haste e nas raízes das cinco plantas afetadas e das cinco plantas sadias, estão reproduzidos no quadro 4.

QUADRO 4.-Resultados da análise química de plantas de laranja doce enxertadas sôbre laranja azêda, sadias e afetadas pela tristeza. Média de cinco plantas

Determinações	Fôlhas		Haste		Raízes	
	Sadia	Afetada	Sadia	Afetada	Sadia	Afetada
	%	%	%	%	%	%
Água	58,19	61,18	49,10	48,03	65,80	64,31
Matéria sêca	41,81	38,82	50,90	51,97	34,20	35,29
Cinza bruta	7,94	7,38	4,31	4,17	5,34	4,98
K_2O — na matéria sêca	1,74	2,93	1,38	1,53	1,69	1,43
CaO — Idem	2,99	1,55	1,31	0,73	1,21	1,04
P_2O_5 — Idem	0,34	0,27	0,23	0,30	0,28	0,24
MgO — Idem	0,43	0,42	0,12	0,12	0,29	0,32
Na_2O — Idem	0,06	0,11	0,06	0,11	0,11	0,10
SiO_2 — Idem	0,17	0,21	.....	.....	0,45	0,25
MnO — Idem	0,0039	0,0018	tr.	tr.	0,0054	0,0019

Os dados reproduzidos no quadro 4 indicam que há uma diferença no teor de CaO e Na_2O entre fôlhas e hastes de plantas afetadas e sadias. Os dados também indicam que as diferenças entre os elementos minerais contidos nas raízes são comparativamente pequenas e que, em todos os casos, exceto para MgO, foram maiores nas raízes de plantas sadias do que nas das plantas afetadas.

SUMMARY

The present paper reports the results of general studies undertaken to determine the relative importance of soil moisture and light on symptom expression of the tristeza disease. It also includes data on the effects of the disease on transpiration and chemical composition of infected plants and records the results of attempts to inactivate the tristeza virus in budwood by means of hot water and chemical treatments.

In the present tests, using potted plants, tristeza disease symptoms were observed to occur eight to ten weeks after inoculation on plants maintained in standing water and on those having a daily application of 200cc of water. In contrast to this relatively rapid and positive symptom expression, it required 28 weeks before definite advanced tristeza disease symptoms were recognized on the inoculated plants given only 50cc of water daily.

Under continuous heavy shade conditions the healthy and inoculated plants showed practically no growth and no tristeza disease symptoms. The growth of the healthy plants increased with the increase in periods (6, 10, and 14 hrs) of exposure to daylight while the inoculated plants grew as well as the healthy plants for the first month they subsequently practically ceased growth. The results of the tests on the influence of light and soil moisture show that conditions favorable for rapid plant growth also favor early symptom expression of the disease and that stunting of the plant is one the principal characteristics of the tristeza disease.

The data obtained from the transpiration studies show that under the controlled test conditions the transpiration of the healthy plants was two and a half times greater than that of the tristeza diseased plants.

The study of chemical composition of the plants indicated that there were some differences in the percentages of CaO and Na_2O in the leaves and stems of diseased and healthy plants. The data also indicate that, although the differences in the amount of chemicals present in the root systems of diseased and healthy plants were comparatively small, in all cases except for MgO the quantities were larger in the healthy than in the diseased roots.

Under field conditions, nutritional deficiency symptoms have been associated with initial tristeza disease symptoms following plant inoculations. Early tests with applications of minor elements indicated some beneficial effects from applications of zinc sulphate. Under controlled conditions in the screenhouse, however, no beneficial effects were obtained from spray applications of zinc sulphate on inoculated plants.

Attempts to inactivate the tristeza virus in budwood sticks that were immersed in hot water were ineffective at the four different temperatures and fourteen exposure periods tested. The results obtained suggest that the thermal-death-point of the virus is probably higher than that of the living cells of the budwood, and that treatment by hot water does not appear to be a feasible method for inactivation of the virus in living budwood.

Chemical inactivation of the tristeza virus was tried using nine different chemicals at four dilutions for each. Under the conditions of the tests none of the chemicals employed appeared to have any inhibiting effect on the tristeza virus.

LITERATURA CITADA

1. Meneghini, M. Sôbre a natureza e transmissibilidade da doença "tristeza" dos *Citrus*. O Biológico **12**: 285-287. 1946.

OBSERVAÇÕES CITOLÓGICAS EM *COFFEA*

XIV - MICROSPOROGÊNESE EM *COFFEA ARABICA* L. VAR. *RUGOSA* K.M.C. (1)

DIXIER M. MEDINA (2)

Engenheiro agrônomo, Secção de Citologia, Instituto Agronômico de Campinas

1 - INTRODUÇÃO

Investigações citológicas estão sendo realizadas para explicar o motivo de não se ter observado, até agora, a ocorrência de plantas com fôlhas enrugadas na descendência do cafeeiro rugosa (*Coffea arabica* L. var. *rugosa* K. M. C.).

A princípio supôs-se que isto poderia estar correlacionado com a ocorrência, no rugosa, de camadas de células com números múltiplos de cromossômios. A análise citológica realizada (1) revelou, no entanto, a existência de um número normal de 44 cromossômios em todos os tecidos estudados, indicando que essa variação não constitui uma quimera citológica.

Sabe-se que o cafeeiro rugosa produz um número muito limitado de frutos. Neste trabalho procurou-se estudar o processo da microsporogênese, a fim de ver se nela ocorre alguma irregularidade que possa explicar essa baixa produtividade. As observações sôbre as várias fases da microsporogênese constituem também uma contribuição para o estudo da meiose na espécie *Coffea arabica* L.

2 - MATERIAL E MÉTODO

Os botões, colhidos e fixados imediatamente em "Carnoy" (três partes de álcool absoluto para uma de ácido acético glacial), foram conservados em refrigerador, durante todo o tempo em que se realizaram êstes estudos, tendo-se o cuidado de renovar o fixador, 24 horas após a colheita. As anteras, para estudo dos microsporocitos e também dos micrósporos, foram coloridas pelo método usual do carmim acético.

O pólen de flores colhidas no dia da sua abertura foi semeado em lâminas com ágar a 0,5 e 15% de sacarose, e examinado 24 horas depois da semeação.

Todos os desenhos aqui apresentados foram feitos com auxílio da câmara clara.

---

(1) Trabalho apresentado à Primeira Reunião Anual da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência, realizada em Campinas, de 1 a 15 de outubro de 1949.

(2) A autora expressa os seus agradecimentos ao engenheiro agrônomo Antônio José Teixeira Mendes pela orientação dada na execução dêste trabalho.

3-OBSERVAÇÕES REALIZADAS

3.1-MICROSPOROGÊNESE

O exame dos microsporocitos mostrou, mais uma vez, a dificuldade que apresentam de se colorirem pelo carmim acético, em início de prófase. Neste estado, o nucléolo é relativamente grande e bem colorido. Alguns cromossômios têm uma tendência para permanecer ligados ao nucléolo, à medida que a prófase caminha para um estado mais adiantado, ao passo que os demais cromossômios se espalham mais ou menos uniformemente pelo núcleo. Em diaquinese, dois pares e, às vêzes, aparentemente três pares, aparecem ligados ao nucléolo, que então se apresenta mais descolorido. Nesta fase, os cromossômios se mostram bastante contraídos, com uma região cromática bem nítida, que constitui, por assim dizer, um corpo, e uma ou duas regiões não cromáticas, como se fôssem prolongamentos do cromossômio. É na região cromática que se situa o centrômero, às vêzes bem visível no estado anterior ao de diaquinese. Quando são duas as regiões não cromáticas, o cromossômio se apresenta como um bastonete, com um prolongamento claro, partindo de cada extremidade. Em diaquinese os cromossômios estão pareados, raramente se notando univalentes. Não foram encontrados polivalentes.

A união dos elementos, em pares, se dá pelas partes fracamente cromáticas. As zonas cromáticas se repelem sistemàticamente, enquanto um, dois ou três quiasmas se formam nos "prolongamentos". Os cromossômios com um único quiasma apresentam-se em forma de "V", "L" ou "I". Aquêles com dois quiasmas tomam a apareência de um "O" e, quando há mais de dois quiasmas, a aparência do cromossômio é de "OX" (fig. 1-*A*).

Em diaquinese foram observados, em média, **3,0** bivalentes com três quiasmas, **12,3** com dois quiasmas, **6,3** com um quiasma e **0,3** com nenhum quiasma (quadro 1).

A figura 1-*B* corresponde a cromossômios num estado anterior à metáfase, que chamamos de prometáfase; nesta fase êles se apresentam mais contraídos e, por êsse motivo, mais fortemente coloridos. Em metáfase I, os cromossômios atingem o máximo de concentração e se arranjam em 22 pares, na placa equatorial (fig. 1-*C*). Esta fase, bem como o início de anáfase (fig. 1-*D*), se presta para a realização de observações sôbre o pareamento dos cromossômios. De dez células examinadas, sòmente duas apresentavam pares que não se mostravam ìntimamente associados (uma com um único, outra com dois pares) (quadro 1).

O número de cromossômios sem quiasmas, em metáfase, foi o mesmo observado em diaquinese (0,3 em média). Notou-se, porém, um aumento no número de bivalentes com um único quiasma (de 6,3 para 11,0), e uma redução de bivalentes com dois quiasmas (12,3 para 8,4). O número de bivalentes com três quiasmas também foi reduzido de 3,0 para 2,3. O total de quiasmas, por célula, foi assim reduzido de 40,0 em diaquinese, para 34,7 em metáfase (quadro 1).

A distribuição dos cromossômios, para os pólos em anáfase I, é normal, tendo sido possível contar, em cinco células, 22 cromossômios em cada pólo. Em quatro outras células contaram-se 22 cromossômios em um pólo, não sendo possível a contagem em outro pólo. Em metáfase II contaram-se

Figura 1.– *A* a *F*: Meiose na variedade rugosa. *A* — diaquinese, x 1400; *B* — prometáfase, x 1400; *C* — vista lateral da metáfase I, n=22, x 2800; *D* — início de anáfase I, n=22, x 1400; *E* — metáfase II, onde se vêem 22 pares de cromossômios em cada placa, x 1400; *F* — anáfase II, onde se contam 22 cromossômios em dois pólos e 44 nos outros dois pólos juntos, x 1400; *G* a *I*: Fases da mitose em micrósporo: *G* — microsporo recém-formado, já independente, x 1400; *H* — metáfase em microsporo n=22, x 1400; *I* — microsporo no estado de dois núcleos, x 1400.

QUADRO 1.- Contagem de quiasmas em células meióticas de café da variedade *rugosa*

Células	Número de bivalentes por célula	Número de bivalentes com:				Total de quiasmas por célula	Número de quiasmas por bivalente
		Nenhum quiasma	Um quiasma	Dois quiasmas	Três quiasmas		
DIAQUINESE							
1	22	1,0	9	10	2	35	1,6
2	22	0,0	5	13	4	43	1,9
3	22	0,0	5	14	3	42	1,9
Média	22	0,3	6,3	12,3	3,0	40,0	1,80
METÁFASE I							
1	22	1,0	13	6	2	31	1,4
2	22	0,0	13	6	3	34	1,5
3	22	0,0	13	7	2	33	1,5
4	22	2,0	11	7	2	31	1,4
5	22	0,0	11	9	2	35	1,6
6	22	0,0	11	9	2	35	1,6
7	22	0,0	11	9	2	35	1,6
8	22	0,0	9	10	3	38	1,7
9	22	0,0	9	10	3	38	1,7
10	22	0,0	9	11	2	37	1,7
Média	22	0,3	11,0	8,4	2,3	34,7	1,57

22 cromossômios em cada placa. A fig. 1-*E* representa uma metáfase II, onde cada cromossômio já se acha dividido.

Também a anáfase II se apresenta normal; em várias células contaram-se 22 cromossômios em um, dois, três, ou nos quatro pólos (fig. 1-*E*).

Se bem que não fôssem verificadas anomalias na distribuição dos cromossômios, devem elas ocorrer acidentalmente, pois de 82 células em telófase II, sete foram observadas que, além dos quatro núcleos, mostravam alguns cromossômios esparsos pelo citoplasma ("laggards"); em quatro outros casos, foram encontrados cinco núcleos telofásicos em vez de quatro.

Em seguida, separa-se o citoplasma, formando-se uma tétrade de micrósporos. A maior parte das tétrades é normal; algumas vêzes, porém, elas apresentam micrócitos adicionais. Em alguns casos foram notados sòmente dois ou três micrósporos de aparência normal, acompanhados de um ou dois micrócitos, conforme a seguinte relação:

N.º DE MICRÓSPOROS E MICRÓCITOS POR TÉTRADE

micrósporos	*micrócitos*	*N.º de células*
4	0	140
4	2	2
4	1	7
3	0	1
3	1 (sem núcleo)	8
2	2 (sem núcleo)	3

3.2-ESTUDO DO PÓLEN

É comum observar-se nos micrósporos recém-formados, ainda na forma de tétrade, além do nucléolo grande, sempre bem visível, um outro nucléolo pequeno. Quando já independentes, porém, os micrósporos apresentam, em geral, um núcleo, onde se vê sòmente um grande nucléolo e os corpúsculos cromáticos, (correspondentes aos cromossômios), em número aproximado de 22 (fig. 1-*G*).

Logo depois de os micrósporos se tornarem independentes, ocorre uma mitose somática nos micrósporos. Na metáfase desta divisão pôde-se contar n=22 cromossômios (fig. 1-*H*). Os dois núcleos filhos, resultantes da divisão, apresentam uma nítida diferença no tamanho dos seus nucléolos. Um dêles tem um nucléolo grande e conserva-se geralmente em posição central na célula ; o outro tem um nucléolo pequeno e vai-se localizar na periferia da célula (fig. 1-*I*).

O pólen, semeado em lâmina preparada com ágar a 0,5% com 15% de açúcar, germina dentro de poucas horas. Foram preparadas dez lâminas com o pólen de cinco flores (duas lâminas de cada flor). De 1100 grãos de pólen semeados, 758 germinaram, o que corresponde a uma percentagem de germinação de 69%, aproximadamente.

4-RESUMO E CONCLUSÕES

O estudo da microsporogênese na var. *rugosa* de *C. arabica* foi realizado a fim de se obterem dados que pudessem esclarecer não só a baixa produtividade dessa variedade, como também o fato de não se terem ainda observado plantas típicas rugosa nas progênies dêsse cafeeiro, estudadas pela Secção de Genética.

Pequenas irregularidades foram notadas na distribuição dos cromossômios em Anáfase II e na formação dos micrósporos. A grande maioria dos grãos de pólen formados tem n=22 cromossômios.

Houve dificuldade em se examinar a estrutura dos cromossômios em início de prófase. Em diaquinese, dois pares e, às vêzes, aparentemente três pares, aparecem ligados ao nucléolo. Nessa fase pôde-se, com relativa facilidade, localizar o centrômero e fazer as contagens dos quiasmas. Observou-se que, em média, 6,6 bivalentes apresentam um só quiasma ; 12,3 dois quiasmas e 3,0 bivalentes mostram três quiasmas. Contaram-se, também, os quiasmas formados em metáfase I, notando-se uma redução em seu número ; o total por célula é de 40,0 em diaquinese e de 34,7 em metáfase. Estudou-se também a primeira divisão que ocorre nos micrósporos, verificando-se ser normal. Os dois núcleos resultantes diferem em tamanho e na dimensão do nucléolo que encerram. Os grãos de pólen são normais, verificando-se 69% de germinação em meio contendo ágar e sacarose.

O fato de não se terem encontrado ainda plantas rugosa na descedência do único exemplar existente dessa variedade, deve ser o resultado do pequeno tamanho das progênies estudadas, o que está correlacionado com a baixa produtividade do rugosa. Os resultados apresentados neste trabalho indicam que essa baixa produtividade não é devida a anomalias na microsporogênese.

SUMMARY

Only one plant of *Coffea arabica* L. var. *rugosa* K.M.C., is available for study. Its fruit production is very low. Of the progeny observed, none has reproduced the rugose condition of the leaves characteristic of the parent plant. Previous study has shown that the rugose condition of the leaves could not be considered a somatic chimera because the tissues have a normal number (2n = 44) of chromosomes.

The present cytological study was undertaken in order to find out if the low yield of the rugose variety could be related to abnormalities in microsporogenesis.

The structure of the chromosomes in early prophase is difficult to study. In diakinesis two pairs and sometimes three pairs of chromosomes appear to be attached to the nucleolus. Also in diakinesis it is possible to locate the centromere in the chromosome pairs and to count the chiasmata. It was observed that an average of 6.6 bivalents show one single chiasma, 12.3 bivalents show two chiamata and 3.0 bivalents show three chiasmata. The average total number of chiasmata per cell at this phase is of 40.0, while at metaphase this number is reduced to 34.7. The first division in the microspore is normal and the resulting two nuclei differ in size and also in the size of their nucleolus.

The polen grains are normal, giving 69% germination on a medium containing 0,5% of agar and 15% of sucrose.

It is concluded that microsporogenesis is normal and would not appear to be related to the low production of fruits of the rugosa variety. The fact that none of the progeny has reproduced the rugose condition might be due to the limited number of plants observed.

LITERATURA CITADA

1. **Medina, Dixier M.** Observações citológicas em *Coffea*. XIII — Observações preliminares em *Coffea arabica* L. var. *rugosa* K.M.C. Bragantia 9: 47-51. est. 1. 1949.

NOTA

MANCHA ANULAR DO AMENDOIM CAUSADA PELO VÍRUS DE VIRA-CABEÇA. A. S. Costa. Em plantações de amendoim (*Arachis hypogea* L.) efetuadas na Estação Experimental Central do Instituto Agronômico, em Campinas, no ano agrícola 1938/1939, foi notada a presença de uma moléstia de vírus desta planta, que causava bastantes perdas à cultura. Uma nota sôbre essa ocorrência foi publicada em O Biológico(1).

As tentativas feitas anteriormente para obter transmissão do vírus causador, seja para outras plantas de amendoim ou para plantas de fumo (*Nicotiana tabacum* L.), tinham falhado, mas foi sugerido que os sintomas da moléstia mostravam semelhança com aquêles causados pelo vírus de vira-cabeça (*Lethum australiense* Holmes) em outras plantas.

Em estudos mais recentes, verificou-se que a planta de amendoim é susceptível ao vírus de vira-cabeça, desenvolvendo, quando infetada, sintomas idênticos àqueles observados anteriormente em plantas do campo. A infecção de plantas de amendoim foi obtida com estirpes do vírus de vira-cabeça provenientes de fumo e também de alface (*Lactuca sativa* L.). Das plantas de amendoim infetadas, recobrou-se o vírus de vira-cabeça por meio de retro-inoculações em plantas de fumo. Nas experiências recentes foi usado pó de carborundo sôbre as fôlhas das plantas de amendoim a serem inoculadas, e o suco das plantas afetadas que forneceram o inóculo foi misturado com sulfito de sódio, na concentração de 0,01 M, antes de ser usado na inoculação. Esta técnica não tinha sido usada nas experiências anteriores e a diferença de técnica é, provàvelmente, a razão pela qual as inoculações foram positivas nas experiências mais recentes.

O amendoim é a quinta planta de importância econômica para o Estado de São Paulo à qual o vírus de vira-cabeça pode causar perdas de relativa importância. As outras são o fumo, o tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.), a alface e a batatinha (*Solanum tuberosum* L.).

Na África, onde ocorre um vírus do mesmo grupo de vira-cabeça (vírus do "kromneck"), que causa moléstias do fumo e do tomateiro, já foi relatado que as plantações de amendoim podem ser ocasionalmente afetadas por êste vírus(2).

Existe na Argentina uma moléstia do amendoim denominada "roseta" ou "necrose apical", de causa desconhecida(3). Ela chega a afetar 30 por cento dos indivíduos de uma plantação. Foi verificado naquele país que o amendoim "blanco" de Santa Fé e a seleção Mf 44S1302 são mais resis-

---

(1) Costa, A. S. Uma moléstia de vírus do amendoim (*Arachis hypogea* L.), a mancha anular. O Biológico **7** : 249-251. 1941.

(2) McClean, A. P. D. *In* Annual Report of the Department of Agriculture for the year ended 31st August, 1948. Farming in South Africa **24** : 121. 1949.

(3) Anônimo. Enfermedades del mani. *In* Reunieronse en Manfredi los técnicos del mani y girasol. Idia **3** : 2-3. 1950.

tentes que o "colorado" de Cordoba. Os sintomas descritos para a moléstia da Argentina assemelham-se aos observados no Brasil (Est. 1). Dada a semelhança da sintomatologia e a ocorrência na Argentina de um vírus do grupo de vira-cabeça, que causa as moléstias "corcova" do fumo e "peste negra" do tomate, é de se presumir que a moléstia do amendoim possa ser causada pelo mesmo vírus.

Além das várias moléstias de vírus de plantas cultivadas no Estado, do tipo de mancha anular, já determinadas como sendo causadas pelo vírus de vira-cabeça, existem outras cuja natureza ainda não foi esclarecida. É possível que algumas dessas moléstias sejam também causadas pelo vírus de vira-cabeça, seja pelas mesmas estirpes que causam moléstias do fumo, batatinha e outras plantas, ou por estirpes especializadas. SECÇÃO DE GENÉTICA, INSTITUTO AGRONÔMICO DE CAMPINAS.

SUMMARY

A virus disease of the peanut plant, described in 1941, is reported to be caused by the tomato spotted wilt virus, locally known as "vira-cabeça" virus. The occurrence of the spotted wilt virus in peanut plantings has already been reported from Africa. It is suggested that the peanut disease, rosette or top necrosis, present in Argentine, might also be caused by the spotted wilt virus, which is known to affect the tobacco and tomato plants in the same country.

Sintomas causados pelo vírus de vira-cabeça em plantas de amendoim. A — Necrose e aglomeração das fôlhas do crescimento apical; B — Sintomas de mosaico, anéis cloróticos concêntricos ou linhas concêntricas; C — Manchas cloróticas com bordo necrótico nas fôlhas basais, iguais aos sintomas locais obtidos em inoculações mecânicas.

SECÇÕES TÉCNICAS

Secção de Agrogeologia : — J. E. de Paiva Neto, M. S. Queiroz, M. Gutmans, A. C. Nascimento, A. Küpper, R. A. Catani, F. C. Verdade, H. P. Medina, A. Klinck, M. T. Piza.

Secção de Botânica : — D. M. Dedecca.

Secção de Café : — J. E. T. Mendes, F. R. Pupo de Morais, H. J. Scaranari.

Secção de Cana de Açúcar : — J. M. de Aguirre Júnior, J. B. Rodrigues, A. L. Segala.

Secção de Cereais e Leguminosas : — G. P. Viegas, N. A. Neme, H. da Silva Miranda, M. Alcover, J. Gomes da Silva, J. Andrade Sobrinho.

Secção de Conservação do Solo : — J. Quintiliano de A. Marques, F. Grohmann, J. Bertoni, F. M. Aires de Alencar, R. N. Tosello, G. B. Barreto.

Secção de Entomologia : — J. Bergamin, Luiz O. T. Mendes, Roméu de Tela.

Secção de Fisiologia e Alimentação de Plantas : — C. M. Franco, Osvaldo Bacchi, R. Inforzato, H. C. Mendes.

Secção de Fitopatologia Aplicada : — A. P. Viegas, C. G. Teixeira.

Secção de Fumo, Plantas Inseticidas e Medicinais : — A. R. Lima, S. Ribeiro dos Santos, A. Jacob.

Secção de Oleaginosas : — O. Ferreira de Sousa, V. Canecchio Filho, E. Abramides.

Secção de Química Mineral : — J. B. C. Néri Sobrinho, A. de Sousa Gomide, F. L. Serafini, J. A. Neger, I. Mendes.

Secção de Raízes e Tubérculos : — J. Bierrenbach de Castro, Edgar S. Normanha, (substituto), A. Pais de Camargo, O. J. Boock, A. S. Pereira.

Secção de Tecnologia Agrícola : — A. Frota de Sousa, M. B. Ferraz, J. P. Néri, A. de Arruda Veiga E. Castanho de Andrade.

Secção de Técnica Experimental e Cálculo : — C. G. Fraga Júnior, A. Conagin.

ESTAÇÕES EXPERIMENTAIS

Central de Campinas : — R. Forster, Miguel A. Anderson, R. Munhoz.

Boracéia : —

Capão Bonito : — A. Rigitano.

Jaú : — Hélio de Morais.

Jundiaí : — J. S. Inglês de Sousa.

Limeira : — C. Roessing.

Mococa : — M. Vieira de Morais.

Monte Alegre do Sul : — A. Gentil Gomes.

Pindamonhangaba : — R. A. Rodrigues.

Pindorama : — J. Aloisi Sobrinho.

Piracicaba : — H. Correia de Arruda.

Ribeirão Prêto : — V. Lazzarini.

São Roque : — W. C. Ribas.

Tatuí : — D. M. Correia.

Tietê : — V. Gonçalves de Oliveira.

Ubatuba : — Natal de Assis Correia.

IMPRIMIU:
INDÚSTRIA GRÁFICA SIQUEIRA S/A
RUA AUGUSTA, 235 — SÃO PAULO